

**SKRIPSI**

**PRODUKSI EPIKATEKIN GALAT DARI KULTUR SUSPensi SEL DAUN  
TEH (*Camellia sinensis* L.) DENGAN VARIASI PENAMBAHAN ELISITOR  
BUBUK *Saccharomyces cerevisiae* DAN KITOSAN**

**Disusun oleh:  
Hermanto  
NPM: 130801399**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2018**

**PRODUKSI EPIKATEKIN GALAT DARI KULTUR SUSPENSI SEL  
DAUN TEH (*Camellia sinensis* L.) DENGAN VARIASI PENAMBAHAN  
ELISITOR BUBUK *Saccharomyces cerevisiae* DAN KITOSAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada Program Studi Biologi  
Fakultas Teknobiologi Atma Jaya Yogyakarta  
guna memenuhi sebagai syarat untuk memperoleh derajat S-1**

Disusun oleh:  
**Hermanto**  
**NPM: 130801399**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2018**

## PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

**PRODUKSI EPIKATEKIN GALAT DARI KULTUR SUSPENSI SEL DAUN  
TEH (*Camellia sinensis* L.) DENGAN VARIASI PENAMBAHAN ELISITOR  
BUBUK *Saccharomyces cerevisiae* DAN KITOSAN**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

**Hermanto**

**NPM: 130801399**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada Selasa, 21 Agustus 2018

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

### SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,

Anggota Tim Penguji,

(Dr. Dra. Exyupransia Mursyanti., M.Si.)

(Drs. P. Kianto Atmodjo, M.Si.)

Dosen Pembimbing Pendamping

(Dr. rer. nat. Y. Reni Swasti, S.TP., M.P.)

Yogyakarta, 31 Agustus 2018

**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA**

**FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**

Dekan,



Dr. Dra. Exyupransia Mursyanti, M.Si.



## PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hermanto

NPM : 130801399

Judul Skripsi : PRODUKSI EPIKATEKIN GALAT DARI KULTUR SUSPENSI  
SEL DAUN TEH (*Camellia sinensis* L.) DENGAN VARIASI  
PENAMBAHAN ELISITOR BUBUK *Saccharomyces cerevisiae*  
DAN KITOSAN

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 21 Agustus 2018

Yang menyatakan



Hermanto

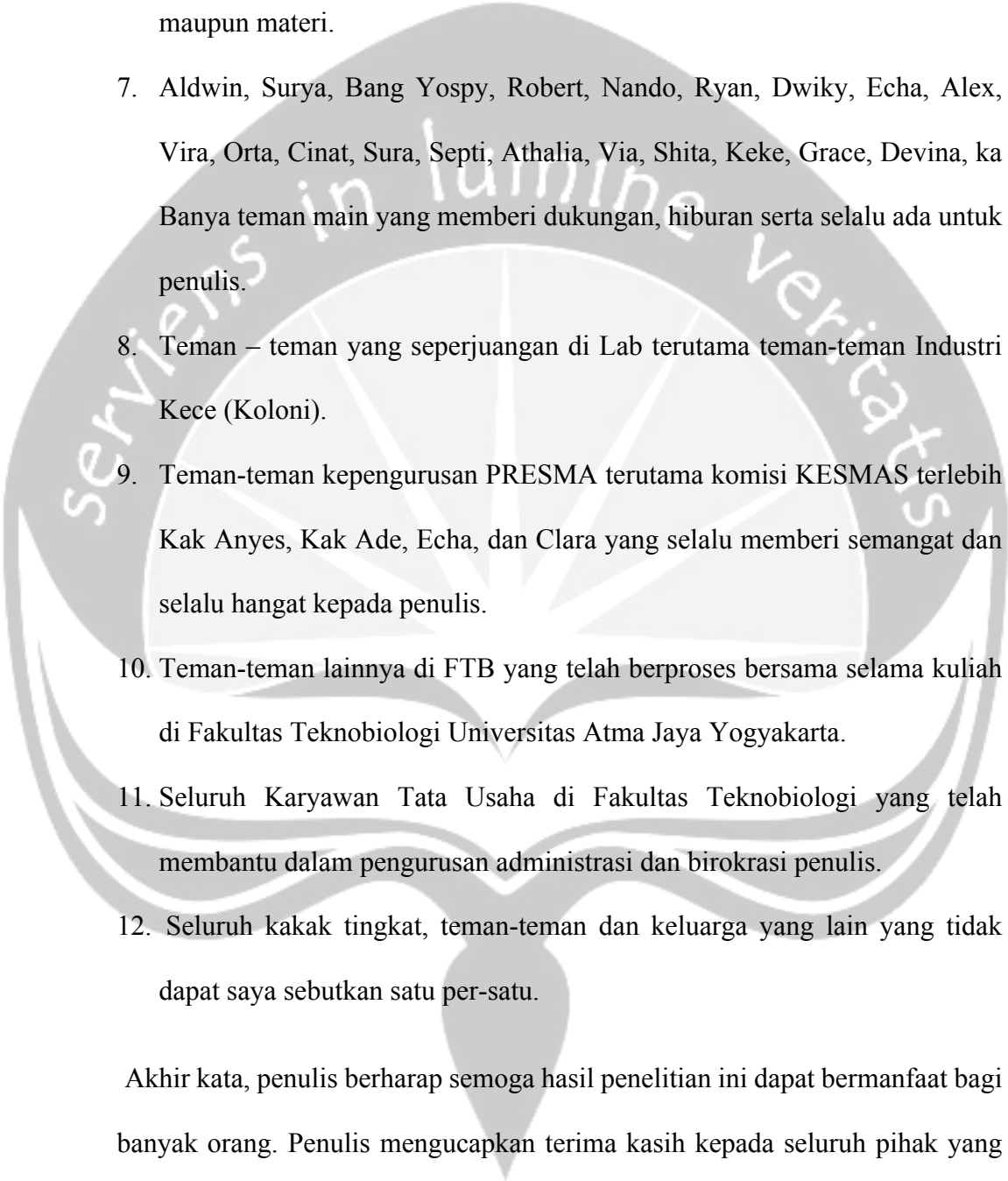
130801399

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan karena berkat penyertaan dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan baik. Skripsi yang berjudul **Produksi Epikatekin Galat dari Kultur Suspensi Sel Daun Teh (*Camellia sinensis* L.) Dengan Variasi Penambahan Elisitor Bubuk *Saccharomyces cerevisiae* dan Kitosan** disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak akan berhasil tanpa dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atmajaya Yogyakarta yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Dra. Exyupransia Mursyanti, M.Si., selaku dosen pembimbing utama yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penelitian dan penulisan naskah.
3. Dr. rer. nat. Y. Reni Swasti, S.TP., M.P., selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak memberikan masukan dan saran selama proses penelitian dan penulisan naskah.
4. Seluruh Dosen Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama kuliah.
5. Bu Wati, Mbak Puput, Mbak Vita, dan Pak Antok sebagai staf laboran, yang telah membantu selama proses penelitian di laboratorium teknobiologi industri, laboratorium bioteknologi, dan laboratorium biologi molekuler.



- 
6. Papa yang selalu mengawasi dan melindungi dari di sana, mama, Ing C, dan Ju C, dan seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan semangat maupun materi.
  7. Aldwin, Surya, Bang Yospy, Robert, Nando, Ryan, Dwiky, Echa, Alex, Vira, Orta, Cinat, Sura, Septi, Athalia, Via, Shita, Keke, Grace, Devina, ka Banya teman main yang memberi dukungan, hiburan serta selalu ada untuk penulis.
  8. Teman – teman yang seperjuangan di Lab terutama teman-teman Industri Kece (Koloni).
  9. Teman-teman kepengurusan PRESMA terutama komisi KESMAS terlebih Kak Anyes, Kak Ade, Echa, dan Clara yang selalu memberi semangat dan selalu hangat kepada penulis.
  10. Teman-teman lainnya di FTB yang telah berproses bersama selama kuliah di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
  11. Seluruh Karyawan Tata Usaha di Fakultas Teknobiologi yang telah membantu dalam pengurusan administrasi dan birokrasi penulis.
  12. Seluruh kakak tingkat, teman-teman dan keluarga yang lain yang tidak dapat saya sebutkan satu per-satu.

Akhir kata, penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak orang. Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang sangat membantu penyelesaian naskah ini.

Yogyakarta, 21 Agustus 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>INTISARI .....</b>	<b>xii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Keaslian Penelitian.....	4
C. Rumusan Masalah .....	6
D. Tujuan Penelitian .....	6
E. Manfaat Penelitian .....	7
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
A. Tanaman Teh ( <i>Camellia sinensis</i> L.) .....	8
B. Antioksidan Serta Manfaatnya .....	11
C. Antioksidan Pada Teh .....	14
D. Kultur <i>in vitro</i> dan Kultur Kalus .....	17
E. Kultur Suspensi Sel .....	20
F. Elisitasi.....	21

G. Elisitor <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	23
H. Elisitor Kitosan .....	25
I. Pengaruh Elisitor Ekstrak <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan Kitosan Terhadap Enzim <i>Phenylalanine Amonia Lyase</i> (PAL) .....	27
J. Kromatografi Lapis Tipis.....	29
K. Hipotesis.....	32
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>33</b>
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	33
B. Alat dan Bahan.....	33
C. Rancangan Percobaan .....	34
D. Tahapan Penelitian.....	36
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>49</b>
A. Induksi Kalus Daun Teh ( <i>Camellia sinensis</i> L.) .....	49
B. Pembuatan Bubuk Elisitor <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan Elisitor Kitosan .....	56
C. Elisitasi Kalus Daun Teh ( <i>Camellia sinensis</i> L.) .....	64
D. Ekstraksi dan Pengujian Total Kandungan Senyawa Fenolik Ekstrak Kalus <i>Camellia sinensis</i> L. ....	66
E. Aktivitas Antioksidan Ekstrak kultur suspensi <i>Camellia sinensis</i> L. ..	72
F. Kandungan Epikatekin Galat Kalus <i>Camellia sinensis</i> L. ....	78
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>85</b>
A. Simpulan .....	85
B. Saran.....	85
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>87</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>97</b>



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Morfologi daun muda dan daun tua teh ( <i>C. sinensis</i> L. ....	10
Tabel 2. Kandungan total fenolik dan persentase inhibisi DPPH pada ekstrak kalus daun teh ( <i>C. sinensis</i> L. pada pemberian elisitor bubuk <i>S. cerevisiae</i> dengan kitosan .....	35
Tabel 3. Konsentrasi epikatekin galat pada ekstrak kultur suspensi daun teh ( <i>C. sinensis</i> L.) pengaruh perlakuan pemberian elisitor bubuk <i>S. cerevisiae</i> dengan kitosan pada hari ke-10 .....	35
Tabel 4. Pertumbuhan kalus daun teh ( <i>C. sinensis</i> L.).....	51
Tabel 5. Hasil uji kemurnian <i>S. cerevisiae</i> .....	56
Tabel 6. Total fenolik ekstrak kultur suspensi daun <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan variasi konsentrasi serbuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan serta waktu pemanenan.....	67
Tabel 7. Persentase inhibisi DPPH ekstrak kultur suspensi daun <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan variasi konsentrasi serbuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan serta waktu pemanenan .....	73
Tabel 8. Kadar epikatekin galat kalus <i>C. siensis</i> L. pengaruh elisitor <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan hari ke-10.....	80

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman <i>C. sinensis</i> L. ....	10
Gambar 2. Pembagian struktur daun teh.....	10
Gambar 3. Struktur DPPH .....	13
Gambar 4. Skema reaksi reduksi DPPH .....	14
Gambar 5. Struktur kimia katekin.....	15
Gambar 6. Struktur kimia epikatekin galat.....	16
Gambar 7. Diagram biosintesis katekin (Flavan 3-ol) dan turunannya .....	16
Gambar 8. Bentuk sel <i>S. cerevisiae</i> .....	24
Gambar 9. Struktur kimia kitosan.....	26
Gambar 10. Jalur reaksi pembentukan senyawa metabolit sekunder .....	28
Gambar 11. Pembagian eksplan daun <i>C. sinensis</i> L. ....	50
Gambar 12. Tahap pertumbuhan kalus daun <i>C. Sinensis</i> L. ....	51
Gambar 13. Kontaminasi jamur dan pencokelatan pada eksplan yang ditumbuhkan pada medium MS dengan hormon BAP dan NAA	53
Gambar 14. Hasil pengamatan morfologi sel <i>S. cerevisiae</i> dengan pewarnaan <i>methylene blue</i> .....	57
Gambar 15. Hasil pengamatan morfologi spora <i>S. cerevisiae</i> dengan pewarnaan Ziehl Neelsen.....	58
Gambar 16. Hasil uji fermentasi karbohidrat <i>S. cerevisiae</i> .....	59
Gambar 17. Hasil pengujian morfologi koloni <i>S. cerevisiae</i> pada medium GYE padat setelah 48 jam inkubasi.....	61
Gambar 18. Grafik pola pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i> pada medium GYE cair selama 26 jam inkubasi.....	62
Gambar 19. Serbuk Kalus <i>C. sinensis</i> L. ....	64

Gambar 20. Perubahan warna reagen Folin Ciocalteu yang ditambah ekstrak kalus <i>C. sinensis</i> L. ....	66
Gambar 21. Kurva kandungan total fenolik ekstrak kultur suspensi <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan variasi konsentrasi bubuk <i>S. cerevisiae</i> dengan kitosan serta waktu panen.....	67
Gambar 22. Perubahan warna larutan DPPH setelah inkubasi dengan ekstrak kalus <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan .....	72
Gambar 23. Persentase inhibisi DPPH ekstrak kultur suspensi <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan variasi konsentrasi bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan serta waktu panen .....	74
Gambar 24. Pembagian gugus penyusun senyawa katekin (A) dan energi ikatan pada senyawa epikatekin galat (B).....	75
Gambar 25. Hasil visualisasi plat kromatografi pada UV 254 nm ekstrak kalus hasil elisitasi dengan variasi konsentrasi bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan pada hari ke-10 .....	79

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi medium Murashige & Skoog .....	96
Lampiran 2. Komposisi medium <i>glycose yeast extract</i> .....	96
Lampiran 3. Kurva standar asam galat .....	97
Lampiran 4. Kurva standar epikatekin galat .....	97
Lampiran 5. Perhitungan konversi kadar total fenolik.....	98
Lampiran 6. Data kadar total fenolik ekstrak kultur suspensi <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan .....	101
Lampiran 7. Analisis ANAVA kadar total fenolik ekstrak kultur suspensi <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan .....	102
Lampiran 8. Data persentase inhibisi DPPH oleh ekstrak kultur suspensi <i>C.</i> <i>sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan.....	104
Lampiran 9. Analisis ANAVA persentase inhibisi DPPH ekstrak kultur suspensi <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan .....	105
Lampiran 10. Data kadar epikatekin galat ekstrak hari ke-10 hasil elisitasi dengan bubuk <i>S. cerevisiae</i> dan kitosan .....	107
Lampiran 11. Hasil analisis ANAVA kadar epikatekin galat ekstrak kultur suspensi <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi dengan bubuk <i>S.</i> <i>cerevisiae</i> dan kitosan .....	108
Lampiran 12. Data absorbansi terhadap waktu pertumbuhan <i>S. Cerevisiae</i> pada medium GYE .....	109
Lampiran 13. Plat kromatografi lapis tipis visualisasi pada sinar tampak.....	110
Lampiran 14. Jalur biosintesis senyawa fenolik dan epikatekin galat .....	111
Lampiran 15. Kromatogram KLT ekstrak kultur suspensi daun <i>C. sinensis</i> L. hasil elisitasi hari ke-10 dan epikatekin galat.....	112



## INTISARI

Epikatekin galat merupakan salah satu senyawa antioksidan dalam teh yang memiliki aktivitas penghambatan senyawa oksidan sebaik epigalokatekin galat. Banyaknya polutan di alam mengakibatkan banyaknya penyakit degeneratif yang menyerang manusia, sehingga perlu dilakukan produksi senyawa antioksidan untuk mengimbangi kebutuhan terhadap senyawa ini. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah dengan elisitasi agar mendapatkan senyawa antioksidan yang optimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat morfologi kalus hasil induksi eksplan daun *Camellia sinensis* L., mengetahui waktu pemanenan *Saccharomyces cerevisiae* serta mengetahui pengaruh kombinasi elisitor bubuk *S. cerevisiae* dan kitosan dalam meningkatkan kadar total fenolik, aktivitas antioksidan, dan produksi epikatekin galat dari kalus daun *C. sinensis* L. Perlakuan yang dilakukan adalah variasi konsentrasi *S. cerevisiae* dan kitosan serta waktu pemanenan kalus. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial. Tahapan penelitian meliputi pembuatan medium induksi kalus serta sterilisasi alat dan bahan, induksi kalus daun *C. sinensis* L. pada medium Murashige dan Skoog dengan hormon BAP dan NAA, elisitasi kalus daun *C. sinensis* L. pada medium cair dan selanjutnya kalus diekstrak dan diuji. Pengujian ekstrak kultur suspensi yang dilakukan meliputi kandungan total fenolik, aktivitas antioksidan, serta perhitungan kadar epikatekin galat. Hasil yang didapat adalah morfologi kalus daun *C. sinensis* L. memiliki tekstur kompak dan remah berbentuk bulat berwarna hijau, putih, dan putih kekuningan, sedangkan waktu yang tepat untuk memanen sel *S. cerevisiae* adalah pada jam ke-22, serta perlakuan elisitasi menggunakan kombinasi elisitor *S. cerevisiae* dan kitosan tidak signifikan meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan, namun dapat secara signifikan meningkatkan kadar epikatekin galat. Perlakuan elisitor terbaik adalah kombinasi *S. cerevisiae* 0,05 % dan kitosan 0,25 % yang menghasilkan epikatekin galat sebesar 254,51 ppm.